植 物 分 类 与 资 源 学 报 2012, 34 (2): 164~170
Plant Diversity and Resources DOI: 10.3724/SP.J.1143.2012.11129

拟南芥雄性不育突变体 *fne* 的遗传与定位分析*

赵 娟, 陈 琰, 惠圣铭, 屠唯一, 陈 晨, 高菊芳**
(上海师范大学生命与环境科学学院, 上海 200234)

摘要: 在 T-DNA 插入突变体 Salk_118481 株系的群体中, 筛选到一株雄性不育突变体, 用 T-DNA 序列上的一对引物进行 PCR 鉴定表明其基因组中没有 T-DNA 插入。通过背景纯化与遗传分析发现该雄性不育突变体是由单个隐性基因控制的, 引起不育的主要原因是在花药发育的第 13~14 期, 花丝不能伸长以完成授粉, 故该突变体命名为 *fne* (filament no elongation)。利用图位克隆的方法对 *FNE* 基因进行了定位, 结果表明 *FNE* 基因位于第五条染色体上分子标记 MBD2 和 MMG4 之间的 97 kb 区间内。目前该区间内尚未见到控制花丝伸长基因的报道, 因此, *FNE* 基因是一个控制花丝伸长的新基因。

关键词: 拟南芥; 雄性不育; 花丝伸长; 图位克隆
中图分类号: Q 78, Q 943 **文献标识码**: A **文章编号**: 2095-0845(2012)02-164-07

Genetic and Mapping Analysis of *Arabidopsis thaliana* Male Sterile Mutant *filament no elongation*

ZHAO Juan, CHEN Yan, HUI Sheng-Ming, TU Wei-Yi, CHEN Chen, GAO Ju-Fang**
(*College of Life Environment Sciences, Shanghai Normal University*, Shanghai 200234, China)

Abstract: To identify new genes important for anther development, we screened for male-sterile mutants among a population of Arabidopsis ecotype Columbia (Col) mutagenized by T-DNA insertion (provided by ARBC). A male sterile mutant line with normal vegetative and flora development but no seed yield was isolated from Salk_118481 line. T-DNA insertion site identification showed that there were no T-DNA sequences in the genome of the mutants. Genetic analysis indicated that the mutant was controlled by a single recessive nuclear gene named filament no elongation because the filament of the mutant remains very short at the 13-14 stage of anther development. The *fne* gene was mapped to a region of 97 kb between the molecular makers MBD2 and MMG4 on chromosome 5 using map-based cloning technique. No genes involved filament elongation were reported in this region, so we believe that *FNE* gene could be a new gene controlling filament elongation in *Arabidopsis*.

Key words: *Arabidopsis thaliana*; Male sterile; Filament elongation; Map-based cloning

雄性不育是指由于植物雄性生殖器官异常造成不能结实或结实率显著下降 (Kaul, 1988)。拟南芥花中有六个雄蕊, 四长两短, 由花丝和花药两部分组成。花丝是雄蕊基部的柄状部分, 起支持和伸展花药的作用, 也具有运输水分与营养物质的功能。Sanders 等 (1999) 将拟南芥正常的花药和花粉发育划分为 14 个时期, 每个时期都具有特征性的细胞事件发生。

研究表明花药开裂的过程受茉莉酮酸 (jasmonic acid, JA) 的直接调控。茉莉酮酸是植物体内广泛存在的一类生长调节物质, 参与调控花丝伸长、花药开裂以及花粉发育。所有已知的与

* 基金项目: 国家自然科学基金项目 (30530100, 30970268) 资助; 上海师范大学校基金项目 (SK200828)
** 通讯作者: Author for correspondence; E-mail: gaojufan@shnu.edu.cn
收稿日期: 2011-09-01, 2011-12-31 接受发表
作者简介: 赵 娟 (1987-) 女, 在读硕士研究生, 主要从事分子生物学研究。E-mail: shadow_12321521@tom.com

茉莉酮酸合成和信号转导缺陷有关的突变体都具有以下共同的特征：（1）花丝伸长减少；（2）花药开裂延迟；（3）花粉活力降低（Mandaokar 等，2006）。*Fad3*（At2g29980）、*Fad7*（At3g11179）以及 *Fad8*（At5g05580）三个基因编码了亚麻酸合成酶，*fad3fad7fad8* 三突变体使 JA 合成受到了影响，从而导致不育表型（McConn 和 Browse，1996）。*DEFECTIVE IN ANTHER DEHISCENCE1*（*DAD1*，At2g44810）基因编码了一个叶绿体磷脂酶 A1 促进 JA 的生物合成，启动子 GUS 分析该基因在雄蕊花丝中特异表达（Ishiguro 等，2001）。*OPR3* 基因编码了一个 12-oxophytodienoate 还原酶，参与 JA 的合成（Sanders 等，2000；Stintzi 和 Browse，2000）。*AOS*（At5g42650）基因在 JA 合成通路中编码一个丙二烯氧化合成酶（Park 等，2002），以上基因的突变体经人工施加 JA 可使花药开裂而育性恢复。此外，*COI1* 基因编码一个 F-BOX 家族蛋白，该蛋白在形成 E3 型泛素连接酶中起重要作用，参与 JA 信号转导途径。*coi1* 突变体中 JA 合成正常，但是无法启动开裂过程，外加 JA 也无法恢复育性（Devoto 等，2002）。

对 *opr3* 突变体花药基因表达谱的分析发现外加 JA 处理可诱导 821 个基因特异性表达，并抑制 480 个基因表达，其中 13 个基因编码转录因子。MYB21 和 MYB24 是两个 MYB 转录因子 19 亚家族的成员。*myb24* 突变体表型基本正常，而 *myb21* 突变体的花丝长度缩短，育性略有下降。但是，*myb21myb24* 双突变体育性略有恢复，提示 MYB21 和 MYB24 在 JA 信号转导中发挥重要作用（Mandaokar 等，2006）。*myb108* 单突变体本身的花丝只是略微缩短，但是 *myb108myb24* 双突变体的花丝就很短，并且育性明显下降（Mandaokar 和 Browse，2006）。另外，两个生长素响应转录因子 ARF6 和 ARF8 也参与花丝伸长和花药开裂过程。人们认为 ARF6 和 ARF8 通过诱导 JA 合成或降低 JA 结合或分解来调节花药开裂和花开放（Nagpal 等，2005），ARF6 和 ARF8 的表达受到 miRNA167 的控制（Ru 等，2006；Wu 等，2006；Yang 等，2006）。

研究还发现，花药外表皮和内壁的木质化并不受到 JA 的调控，在 *AtMYB26* 的突变体 *ms35* 中，药室内壁木质化进程没有启动，导致花药无法开裂，并发现该转录因子调控了一批木质化相关的下游基因（Yang 等，2007）。此外，NAC 转录因子家族的两个基因 *SECONDARY WALL-PROMOTING FACTOR1*（*NST1*）和 *NST2* 也参与花药内壁木质化进程，在 *nst1nst2* 双突变体中，由于内壁的木质化程度降低而导致花药无法开裂，同时，在 NST1 过量表达的植株中，有许多纤维素合成酶相关基因的表达大幅上升（Mitsuda 等，2005）。

本文在 T-DNA 插入突变体 Salk_118481 株系的群体中，筛选到一株雄性不育突变体。遗传分析表明该突变体的性状是由单个隐性基因控制的。对该突变体的花进行解剖观察发现在花药发育的第 13 ~ 14 期，花药能够开裂，亚历山大染色表明花粉是可育的，但花丝仍然非常短，花药中的花粉不能抵达柱头以完成授粉过程，故该突变体命名为 *fne*（filament no elongation）。利用图位克隆的方法对 *FNE* 基因进行了定位，结果表明 *FNE* 基因位于第五条染色体上分子标记 MBD2 和 MMG4 之间的 97 kb 区间内。这些结果为基因的克隆和功能研究奠定了基础。

1　材料与方法

1.1　植物材料

拟南芥（*Arabidopsis thaliana*）分别以 Columbia（Col）和 Lansberg erecta（Ler）为遗传背景，拟南芥雄性不育突变体 *fne* 从 Salk_118481 中分离获得，背景为 Col。种植方法同易君等（2006）。

1.2　方法

1.2.1　*遗传分析*　以野生型 Col 为父本，突变体为母本进行杂交得到 F_1 代种子，F_1 代植株自交得到 F_2 代种子。种植 F_2 代种子，观察 F_2 代植株表型，统计 F_2 代植株中可育植株与不育植株的比例。

1.2.2　*雄性不育基因 fne 的定位*　收集用野生型 Ler 作为父本与突变体杂交所得到的 F_2 遗传群体中的突变体用于基因定位。基因初定位的方法及所用分子标记同易君等（2006），一旦找到了连锁的分子标记，就在该分子标记附近设计新的分子标记（表 1），对突变体单株进行基因型分析，对目的基因进行进一步定位。

1.2.3　*DNA 提取*　拟南芥基因组 DNA 提取参照 Sun 等（2000）的方法。

1.2.4　*PCR 反应*　PCR 反应参照 Sun 等（2000）的方法。分子标记 K15F6、MYC6、MJB21、MBD2、MMG4、

K9D7、MPL12等是根据网站www. arabidopsis. org上公布的拟南芥基因组多态性数据库，采用软件Primer 5.0设计的。引物的序列由英潍捷基（上海）贸易有限公司合成。用2.5%的琼脂糖凝胶进行电泳验证2个亲本Ler和Col之间的多态性。

1.2.5 *花药发育的光学显微镜观察* 拟南芥野生型和突变体花序在卡诺固定液（无水乙醇：冰醋酸=3：1）固定1 h，95%乙醇洗涤后，100%乙醇脱水，环氧丙烷置换后，spurr树脂渗透和包埋，修块后用玻璃刀在Powertome XL（RMC产品）超薄切片机上连续半薄切片，片厚1 μm。切片展平干燥后用0.05%甲苯胺兰染色5 min，蒸馏水洗涤干燥，Olympus普通光学显微镜观察并拍照。

1.2.6 *花药发育的荧光显微镜观察* 固定方法同1.2.5。固定过的花序用下行梯度乙醇洗涤，并保存在70%乙醇中。观察前用蒸馏水洗涤花序，并用0.1%苯胺蓝（Aniline Blue）染色3 h。在体视镜下分别分离野生型和突变体不同时期的花苞，按大小（发育时期）顺序排列。然后按顺序分离每朵花中的雄蕊，置于含一滴灭菌蒸馏水的载玻片上，盖上盖玻片，用拇指轻轻按压后在Olympus荧光显微镜下用紫外光激发观察并拍照。

1.2.7 *成熟花粉扫描电子显微镜观察* 分离野生型和突变体13~14期花药，开裂面朝上置于扫描电镜制样台上，空气干燥2 d后喷金观察。

2 结果与分析

2.1 突变体*fne*的表型分析

突变体*fne*是从Salk_118481植株群体中分离获得的，用T-DNA序列上的一对引物进行PCR鉴定表明其基因组中没有T-DNA插入。突变体在生长过程中表现出正常的营养生长和花发育，但是，与野生型植株比较，突变体的果荚短小，成熟后不含种子（图1；图2：A，B）。而用Col或Ler野生型植株的花粉与其杂交，可以获得种子，说明其雌蕊是正常的，该突变体是雄性不育突变体。对14期花进行解剖，发现突变体雄蕊中的花药已经开裂，但花丝并没有出现野生型花中的伸长现象（图2：C，D），故将该突变体命名为*fne*（filament no elongation）。

由于*fne*突变体14期花药能够开裂，并且内含大量花粉粒，因此用扫描电镜和亚历山大染色法对其外貌和育性进行了观察。扫描电镜结果表明突变体的花粉也能形成蜂窝状的花粉外壁，不过与野生型的花粉相比，不够饱满（图3：A，B）。

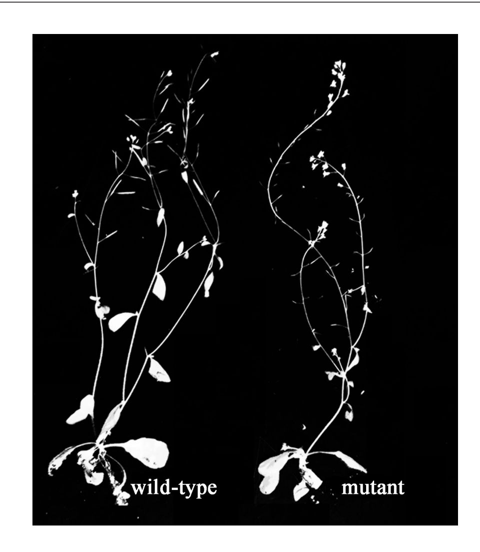


图1 野生型和突变体植株形态比较
野生型植株具有正常的果荚。突变体具有短小的果荚

Fig. 1 Morphology comparison of the wild-type and mutant plant
A wild-type plant showing normal seedpods; a mutant plant with small seedpods

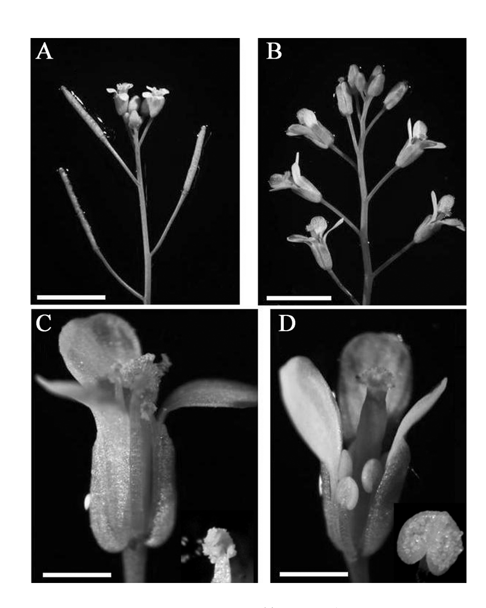


图2 *fne*突变体花的特征

A. 野生型花序，显示生长的果荚和开放的花；B. *fne*突变体花序，多朵花处于开放状态；C. 处于开放状态的野生型花，其花丝显著伸长，开裂的花药（如右下角所示）高于柱头；D. 处于开放状态的突变体花，其花药已经开裂（如右下角所示），但花丝很短。标尺=5 mm（A，B）=2 mm（C，D）

Fig. 2 Characterization of the *fne* mutant flowers

A. The inflorescence of wild-type, showing developing seedpods and opened flowers. B. The inflorescence of *fne* mutant, note many opened flowers. C. In opened flower of wild-type, the filaments are elongated; the anther is dehiscent and is above the stigma. D. In opened flower of *fne* mutant, the anther is also dehiscent, but the filaments remain very short. bar=5 mm (A and B); bar=2 mm (C and D)

而亚历山大染色结果表明 *fne* 突变体的花粉是可育的（图 3：C，D）。用人工方法将 *fne* 突变体 14 期的花粉与自身柱头进行杂交，能产生种子，进一步说明 *fne* 突变体 14 期的花粉是可育的（结果未显示）。

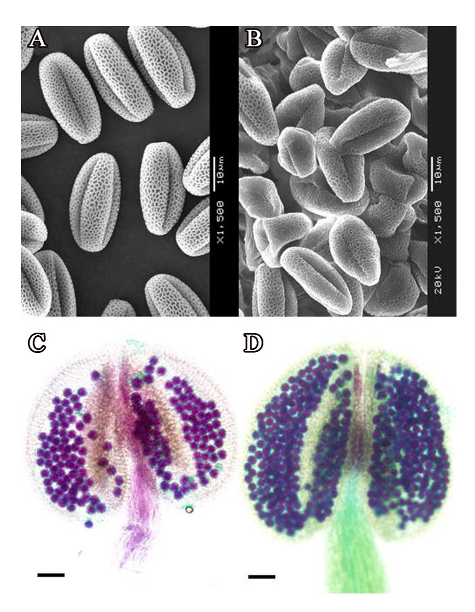


图 3　野生型和 *fne* 突变体花粉形态和育性的比较
扫描电镜观察野生型花粉（A）和 *fne* 突变体花粉（B），两者都能形成花粉外壁，但突变体的花粉没有野生型的饱满。亚历山大染色野生型（C）花药中的花粉粒显示可育的紫红色，*fne* 突变体（D）花药中的花粉粒也是紫红色

Fig. 3　Morphology and fertility comparison of wild-type and *fne* mutant pollen grains
SEM examination of pollen grains of wild-type (A) and the *fne* mutant (B). The pollen grains of *fne* mutant have formed the exine, but are not as plump as that of the wild-type. Alexander's staining of wild-type (C) and *fne* anthers (D). The purple-stained pollen grains in the *fne* anther indicate pollen grains are fertile grains. bar = 20 μm (in C and D)

尽管 *fne* 突变体 14 期的花药能够开裂，但其裂开的程度远比野生型的要小（图 2：C，D）。为了了解突变体的花药在发育过程中发生的变化，我们采用荧光显微镜技术对野生型和突变体不同发育时期的花药进行了压片观察。结果表明在花药发育的 1～7 期，野生型和突变体花药结构的化学成分没有明显不同（1～6 期未显示）。到花药发育的第 7 期，野生型和突变体花药的药室中都能形成由胼胝质包裹的四分体（图 4：A，B，D，E），并且在花药发育第 8 期胼胝质完全降解（图 4：C，F）。但是从花药发育第 7 期的晚期开始，突变体的药室壁开始发出红色荧光（图 4：E），而此时野生型药室壁的荧光很弱（图 4：B）。从花药发育的第 8 期开始，野生型花药的药室细胞发出蓝色荧光，而突变体花药的药室细胞在持续发出红色荧光的同时，蓝色荧光逐渐增强（图 4：C，F，G～L）。

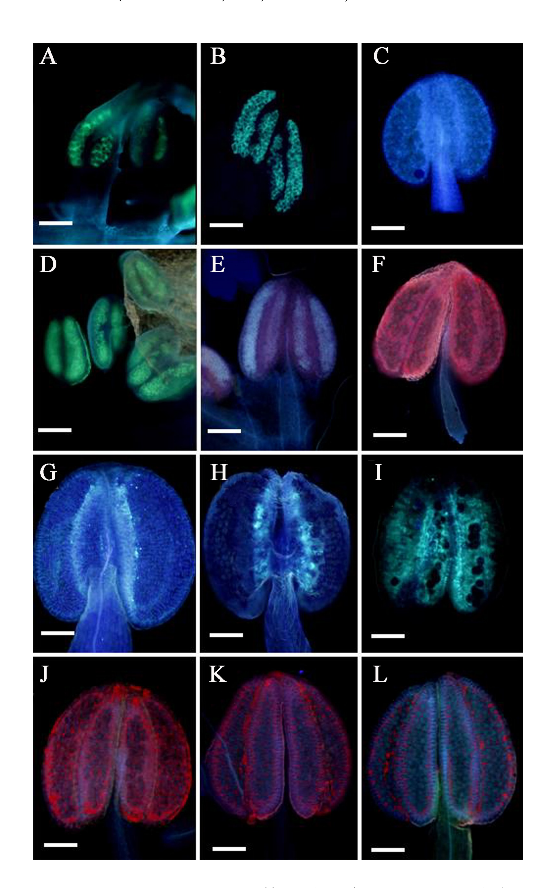


图 4　野生型和 *fne* 突变体花药发育的细胞化学染色
用苯胺兰溶液对野生型（A-C 和 G-I）和 *fne* 突变体（D-F 和 J-L）花药染色后在紫外激发下观察到的荧光。A 和 D：第 7 期花药，胼胝质发出黄绿色荧光。B 和 E：第 7 期晚期花药，胼胝质开始降解，黄绿色荧光减弱。C 和 F：第 8 期花药，野生型花药发出蓝色荧光，而 *fne* 突变体花药发出红色荧光。G 和 J：第 9～10 期花药；H 和 K：第 11～12 期花药；I 和 L：第 13 期花药。标尺 = 100 μm

Fig. 4　Cytochemical staining for callose and cellulose in wild-type and *fne* mutant anthers with aniline blue
Fluorescence expression in wild-type anthers (A-C and G-I) as well as in *fne* mutant anthers (D-F and J-L) with aniline blue staining under UV light. A and D. anthers at early stage7, showing the tetrad surrounded with callose (green fluorescence). B and E. anthers at late stage 7, showing the fluorescence of callose decreasing. C and F. anthers at stage 8, the wild-type anther emitting blue fluorescence while the *fne* mutant anther emitting red fluorescence. G and J. anthers at stage 9-10. H and K. anthers at stage 11-12. I and L. anthers at stage 13. bar = 100 μm

以上结果提示从花药发育第7期的晚期开始，*fne*突变体花药药室细胞的化学成分就与野生型的不同。由于细胞壁成分纤维素在紫外光激发下能产生蓝色荧光，因此可以推测*fne*突变体花药药室细胞的细胞壁中纤维素含量比野生型的低。对野生型和*fne*突变体花药横切面结构的观察（图5）证实了上述推测。

图5A和D分别显示的是野生型和*fne*突变体第8期的花药横切面，在结构上两者没有明显的差别，但在随后的发育过程中，*fne*突变体的花药明显不如野生型的饱满（图5：E，F），野生型花药在第11期药室内壁细胞形成纤维素斑（图5：C，箭头所指），而*fne*突变体此时的药室内壁细胞没有形成纤维素斑（图5：F）。

2.2 突变体 *fne* 的遗传分析

为了确定*fne*突变体是否由单个基因控制，将野生型Col作为父本，突变体作为母本杂交得到F_1代，F_1代植株全为可育的野生型表型。F_1代自交得到F_2代种子。F_2代中可育植株与不育植株为159∶48，接近3∶1。经卡方检测，$\chi^2_{[1]}=0.3623>0.0039$，$P<0.95$ 其实际比例和理论比例没有明显差异，表明该突变体表型是隐性单基因控制的。

2.3 突变体 *fne* 的遗传定位

为了进一步研究*fne*突变体并最终克隆*fne*基因，我们通过遗传定位以确定该突变基因在染色体上的位置。首先，我们选用在拟南芥基因组五条染色体上分布均匀的16对分子标记（引物序列见易君等，2006）进行了基因的初定位连锁分析。结果表明突变基因*fne*与第5条染色体上分子标记ciw9连锁。利用新设计的分子标记（表1）对1 200株突变体基因多态性分析的结果，将*fne*基因定位在第5条染色体分子标记MBD2和MMG4之间的97 kb的区间内（图6）。

3 讨论

3.1 花药开裂和花丝伸长可能由不同的机制控制

Sanders等（1999）揭示了拟南芥花药开裂的主要事件。这一过程开始于中层和绒毡层的降解、药室内壁层的扩大和药室内壁细胞和连接细胞细胞壁纤维素斑的形成（细胞壁增厚）。隔膜细胞的退化使四个药室变成了两个，接着裂缝细胞破裂使花粉释放。

在开裂前，伴随着裂缝细胞的溶解，药室内壁和表皮细胞变得饱满，这样在药室壁里产生了一个向内方向的力使虚弱的裂缝细胞彻底破碎。

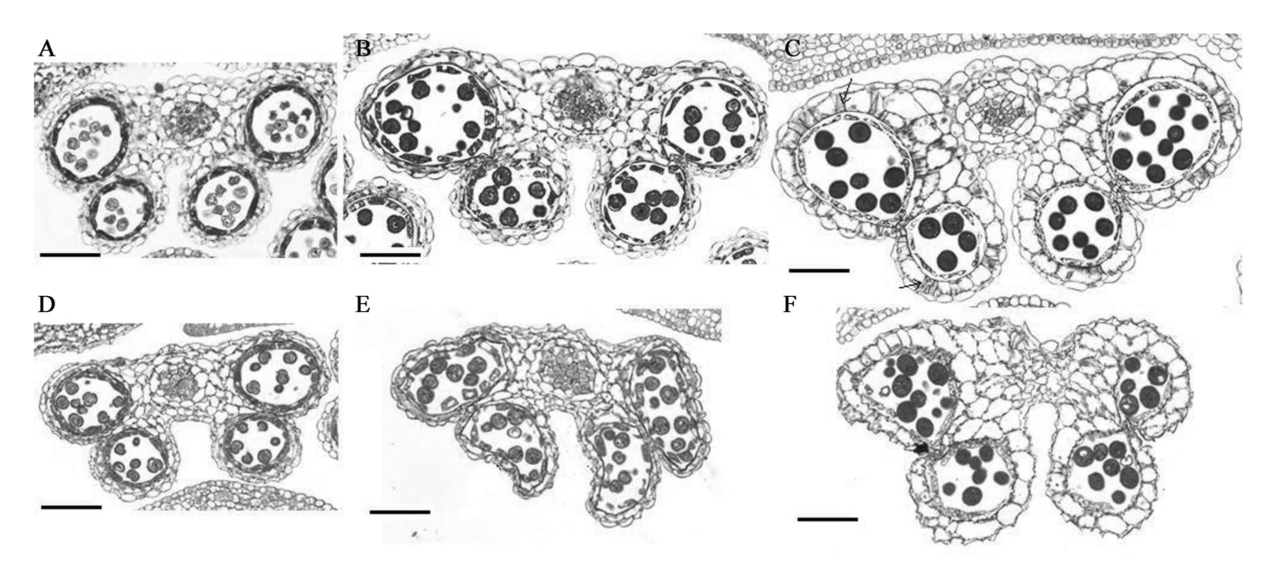


图5 野生型和*fne*突变体花药横切面观察

A和D：第8期花药横切，B和E：第9期花药横切，C和F：第11期花药横切，C中的箭头指内壁细胞壁中的纤维素斑。A-C：野生型；D-F：*fne*突变体。标尺=50 μm

Fig. 5 Observation on cross-section of wild-type and *fne* mutant anthers

A and D: stage 8 anthers; B and E: stage 9 anthers; C and F: stage 11 anthers. The narrows in the C show the fibrous bands of endothecial cell walls. A-C: wild-type; D-F: *fne* mutant. bar=50 μm

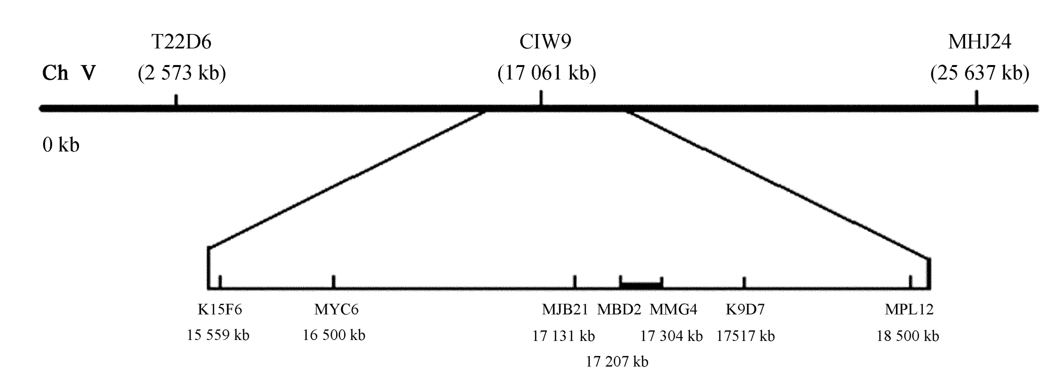


图 6　*fne* 基因定位在第 5 条染色体上分子标记 MBD2 和 MMG4 之间的 97 kb 的区间内。▬▬代表基因定位的区间位置

Fig. 6　Genetic mapping of gene *FNE*. ▬▬ Location of the gene *FNE*

表 1　本研究所涉及的分子标记引物序列

Table 1　The sequences of molecular markers involved in this study

Marker	Forward primer	Reverse primer
K15F6	5'-gcaagtgaggaaagaat-3'	5'-aaaggctcaaaagccc-3'
MYC6	5'-ttatcgcgacgtagaaa-3'	5'-accaaattccacaaga-3'
MJB21	5'-gaacatgttcgatgctc-3'	5'-aatatcatctcgttgtact-3'
MBD2	5'-gtggtgaactcacgcaa-3'	5'-cggttttccatgcagtc-3'
MMG4	5'-tcaacagatatcgtagag-3'	5'-gctgccaaaatctctca-3'
K9D7	5'-atagtccgaaagctatg-3'	5'-ttaccttcacatgctac-3'
MPL12	5'-taagtttattgtactcattgc-3'	5'-agttcacgtagcttctata-3'

随后干燥的药室内壁引起内壁细胞壁加厚区和未加厚区产生不同的皱缩，产生了一个向外的力引起药室壁收缩，裂缝完全开放从而使得花粉得以释放（Keijzer, 1987）。

对 *fne* 突变体表型的分析表明其 13 ~ 14 期雄蕊的花丝没有发生野生型花丝的伸长现象，花药虽能开裂，却因内壁细胞没有形成纤维素斑（图 5）而使开裂程度较小（图 2），这些结果提示拟南芥花在开放时，控制花丝伸长和花药开裂的机制可能是不同的。对 *FNE* 基因的克隆有助于阐明拟南芥花丝伸长的分子机制。

3.2　*fne* 基因功能预测及候选基因的选择

fne 突变体的花粉粒能够形成与野生型花粉粒相似的花粉外壁（图 3：A，B），但不够饱满，并且亚历山大染色显示其花粉是可育的。对突变体花药结构的荧光显微镜观察以及花药横切面的观察结果均表明药室内壁细胞细胞壁中的纤维素含量显著减少。根据以上结果，我们推测 *FNE* 基因的功能可能与内壁细胞细胞壁中纤维素斑的形成有关。

在 MBD2 与 MMG4 之间的 97 kb 区间内，有数个基因编码未知功能的蛋白。其中 At5g43150 和 at5g43180 两个基因在花药中高表达，目前我们正在克隆这两个基因，并根据测序结果确定候选基因，设计互补实验，并对该基因的功能作进一步研究。

致谢　作者的实验工作是在上海师范大学杨仲南教授负责的植物功能基因实验室完成，在此表示衷心感谢；感谢 ABRC 提供突变体种子。

〔参　考　文　献〕

Devoto A, Nieto-Rostro M, Xie DX *et al.*, 2002. COI1 links jasmonate signaling and fertility to the SCF ubiquitin-ligase complex in *Arabidopsis* [J]. *The Plant Journal*, **32** (4): 457—466

Ishiguro S, Kawai-Oda A, Ueda J *et al.*, 2001. The DEFECTIVE IN ANTHER DEHISCIENCE gene encodes a novel phospholipase A1 catalysing the initial step of jasmonic acid biosynthesis, which synchronizes pollen maturation, anther dehiscence, and flower opening in *Arabidopsis* [J]. *The Plant Cell*, **13** (10): 2191—2209

Kaul MLH, 1988. *Male-Sterility in Higher Plants: Monographs on*

Theoretical and Applied Genetics [M]. Berlin: Springer

Keijzer CJ, 1987. The processes of anther dehiscence and pollen dispersal. I. The opening mechanism of longitudinally dehiscing anthers [J]. *New Phytologist*, **105** (3): 487—498

Mandaokar A, Browse J, 2009. MYB108 Acts together with MYB24 to regulate jasmonate-mediated stamen maturation in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiology*, **149** (2): 851—862

Mandaokar A, Thines B, Shin B *et al.*, 2006. Transcriptional regulators of stamen development in *Arabidopsis* by transcriptional profiling [J]. *The Plant Journal*, **46** (6): 984—1008

McConn M, Browse J, 1996. The critical requirement for linolenic acid is pollen development, not photosynthesis, in an *Arabidopsis* mutant [J]. *The Plant Cell*, **8** (3): 403—416

Mitsuda N, Seki M, Shinozaki K *et al.*, 2005. The NAC transcription factors NST1 and NST2 of *Arabidopsis* regulate secondary wall thickenings and are required for anther dehiscence [J]. *The Plant Cell*, **17** (11): 2993—3006

Nagpal P, Ellis CM, Weber H *et al.*, 2005. Auxin response factors ARF6 and ARF8 promote jasmonic acid production and flower maturation [J]. *Development*, **132** (18): 4107—4118

Park JH, Halitschke R, Kim HB *et al.*, 2002. A knock-out mutation in allene oxide synthase results in male sterility and defective wound signal transduction in *Arabidopsis* due to a block in jasmonic acid biosynthesis [J]. *The Plant Journal*, **31** (1): 1—12

Ru P, Xu L, Ma H *et al.*, 2006. Plant fertility defects induced by the enhanced expression of microRNA167 [J]. *Cell Reserach*, **16**: 457—465

Sanders PM, Bui AQ, Weterings K *et al.*, 1999. Anther developmental defects in *Arabidopsis thaliana* male-sterile mutants [J]. *Sexual Plant Reproduction*, **11** (6): 297—322

Sanders PM, Lee PY, Biesgen C *et al.*, 2000. The *Arabidopsis* DELAYED DEHISCENCE1 gene encodes an enzyme in the jasmonic acid synthesis pathway [J]. *The Plant Cell*, **12** (7): 1041—1061

Stintzi A, Browse J, 2000. The *Arabidopsis* male-sterile mutant, *opr3*, lacks the 12-oxophytodienoic acid reductase required for jasmonate synthesis [J]. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, **97** (19): 10625—10630

Sun Y, Zhang W, Li FL *et al.*, 2000. Identification and genetic genetic mapping of four novel genes that regulate leaf development in *Arabidopsis* [J]. *Cell Research*, **10** (4): 325—335

Wu MF, Tian Q, Reed JW, 2006. *Arabidopsis* microRNA167 controls patterns of ARF6 and ARF8 expression, and regulates both female and male reproduction [J]. *Development*, **133** (21): 4211—4218

Yang CY, Xu ZY, Song J *et al.*, 2007. *Arabidopsis* MYB26/Male STERILE 35 regulates secondary thickening in the endothecium and is essential for anther dehiscence [J]. *The Plant Cell*, **19** (2): 534—548

Yang JH, Han SJ, Yoon EK *et al.*, 2006. Evidence of an auxin signal pathway, microRNA167 -ARF8 -GH3, and its response to exogenous auxin in cultured rice cells [J]. *Nucleic Acids Research*, **34** (6): 1892—1899

Yi J (易君), Gao JF (高菊芳), Zhang ZB (张在宝) *et al.*, 2006. Genetic and mapping analysis of *Arabidopsis thaliana* male sterile mutant ms1502 (Cruciferae) [J]. *Acta Botanica Yunnan* (云南植物研究), **28** (3): 283—288